

Artículo científico**PELETIZACIÓN DE SEMILLAS CON BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL**

Yoania Ríos Rocafull, Janet Rodríguez Sánchez, Rafael Martínez Viera<sup>†</sup>, Bernardo Dibut Álvarez, Mirian C. Gordillo Orduño y Marisel Ortega García.

**RESUMEN**

La peletización es una tecnología utilizada a nivel internacional para proteger las semillas de daños mecánicos, biológicos y químicos, así como aumentar el valor agregado de estos sistemas con la incorporación de microorganismos, lo cual incrementa los rendimientos agrícolas. Mediante el método de Difusión Zonal en Placas se demostró que cepas de *Azotobacter chroococcum*, *Rhizobium pusense*, *Rhizobium* spp, *Bacillus megatherium* y *Bacillus subtilis* puras y combinadas entre ellas (fijadores de nitrógeno, solubilizador de fósforo y antagonista), son compatibles con las sustancias peletizantes Disco Agroespecial Azul L-201 y Disco Agro Verde L-205. La población de los microorganismos cuando se aplican de forma combinada (*A. chroococcum*, *B. megatherium* y *B. subtilis*) para semillas de maíz (*Zea mays* L.) y arroz (*Oryza sativa* L.) y *Rhizobium*, *B. megatherium* y *B. subtilis* para garbanzo (*Cicer arietinum* L.) y frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) oscila entre  $10^3$  y  $10^5$  UFC semilla<sup>-1</sup>. Las semillas peletizadas e inoculadas con la mezcla bacteriana se deterioran a temperatura ambiente antes de los 15 días de almacenamiento. En condiciones de refrigeración (4-6 °C) se muestra un aumento en la concentración de los microorganismos, la que oscila entre  $10^3$  y  $10^6$  UFC semilla<sup>-1</sup>. En condiciones controladas se demostró que al combinar la peletización con bacterias promotoras del crecimiento vegetal se obtienen incrementos para diferentes indicadores de crecimiento sobre los cuatro cultivos, con respecto a una variante sin inocular. La sustancia Disco Agro Verde L-205 se destacó por su comportamiento.

**Palabras clave:** aplicación, inoculantes microbianos, productos mixtos.

**Seed pellet with plant growth promoting bacteria.****ABSTRACT**

Pellet in a technology used in the whole world to protect the seed against mechanic, chemic and biologic damage. Increase the value of this system with microorganisms will be good for crop yield. By Zonal Box Diffusion Method was demonstrated that strains of *Azotobacter chroococcum*, *Rhizobium pusense*, *Rhizobium* spp, *Bacillus megatherium* y *Bacillus subtilis* pure and combine, were compatible with Disco Agroespecial Azul L-201 y Disco Agro Verde L-205 substances. Microorganism's population in pellet seed inoculated with mix microorganism (*A. chroococcum*, *B. megatherium* and *B. subtilis*) for maize seed (*Zea mays* L.) and rice (*Oryza sativa* L.) and *Rhizobium*, *B. megatherium* and *B. subtilis* for chickpea (*Cicer arietinum* L.) and black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) was between  $10^3$  y  $10^5$  UFC seed<sup>-1</sup>. Seeds inoculated with microorganism

---

MSc. Yoania Ríos Rocafull, Investigador Auxiliar, Máster en Microbiología del Departamento de Recursos Genéticos Microbianos y Productos Bioactivos del Instituto de Investigaciones en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt", INIFAT, Calle 188 #38754 e/ 397 y Linderos, Santiago de las Vegas. Municipio Boyeros. La Habana. Cuba. E-mail: dpagrobiotec@inifat.co.cu

combination and pellets are deteriorated before 15 days of store. In freezers conditions (4-6 °C) was showed an increase of microorganism concentration between  $10^3$  and  $10^6$  UFC seed<sup>-1</sup>. Over controlled conditions was demonstrated that with the use of pellet technology and plant promoting bacteria was obtained increased different growth indicators for the four crops respect to no inoculated variant. The substance Disco Agro Verde L-205 had better results.

**Key words:** application, microbial inoculants, mix products.

## INTRODUCCIÓN

La peletización de las semillas permite modificar el tamaño y forma de la semilla para una mejor manipulación de la misma. Además, puede ser utilizada como sistema para identificar y proteger a la semilla contra daños mecánicos, químicos y biológicos y para la siembra de precisión, por lo que es una tecnología de interés para el sector agrario (Bennett y Lloyd, 2015).

La incorporación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PBPG por sus siglas en inglés) durante el proceso de peletización es una alternativa atractiva, debido a las capacidades metabólicas que presentan este tipo de microorganismos que contribuyen a una mayor asimilación de nutrientes por parte de la planta, además de la transferencia a la especie vegetal de otros beneficios como las fitohormonas y compuestos con efecto antagonista sintetizados por las PGPB (Vergani y Zúñiga, 2018).

El uso de productos mixtos elaborados a partir de PGPB constituye en este campo un aspecto de interés, pues la semilla incrementaría su valor agregado y aumentaría las posibilidades de alcanzar los rendimientos esperados al combinar los beneficios de la tecnología de peletización con un mayor número de características estimuladoras del crecimiento, al contar con varios microorganismos adheridos a su superficie. Sin embargo, la tecnología ha sido muy utilizada para inocular el género *Rhizobium* y, en menor cuantía, para otras bacterias y la mezcla de ellas.

El objetivo de la investigación fue evaluar la posibilidad de combinar diferentes cepas de PGPB autóctonas durante la peletización de semillas de maíz (*Zea mays* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), garbanzo (*Cicer arietinum* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), a partir de determinar la supervivencia de los microorganismos después de la peletización y el comportamiento de las especies vegetales una vez peletizada e inoculada la semilla.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Compatibilidad de distintas sustancias peletizantes y diferentes microorganismos de interés agrícola.

Se realizó mediante el método descrito por Martínez y Dibut (2012), utilizando el medio de cultivo Agar Müller Hinton (BIOCEN, 2013).

Las placas *Petri* de 90 mm con el medio de cultivo no solidificado se inocularon con 1 mL de los productos elaborados a partir de las cepas de *Azotobacter chroococcum*, *Rhizobium* y *Bacillus*, todas conservadas en la Colección de Bacterias Beneficiosas del INIFAT en glicerol a -20 °C de temperatura. Los pozos de 7 mm de diámetro abiertos en el medio de cultivo solidificado se rellenaron con las sustancias peletizantes Disco Agroespecial Azul L-201 y Disco Agro Verde L-205, diluidas en agua común al 50 %. Luego de la incubación a 30 °C de temperatura durante 48 horas, se midió el halo de inhibición formado.

La escala utilizada para determinar el grado de compatibilidad fue la siguiente: 0 a 0,25 cm de halo: compatible; 0,26 a 0,5 cm: medianamente compatible y mayores de 0,5 cm: incompatibles (Martínez y Dibut, 2012).

En la Tabla 1 se muestran los microorganismos empleados en la investigación y las siglas con las que se denotaron durante el estudio.

**Tabla 1.** Microorganismos puros empleados en el estudio de compatibilidad.

Microorganismos	Cepa	Siglas utilizadas en el estudio
<i>Azotobacter chroococcum</i>	INIFAT-12	Ac
<i>Rhizobium pusense</i>	INIFAT Gr-3	M
<i>Rhizobium spp</i>	INIFAT Ps-1	Rh
<i>Bacillus megatherium</i>	Bm cub-3	Bm
<i>Bacillus subtilis</i>	INIFAT-101	Bs

Los productos a partir de estas cepas se obtuvieron mediante un proceso de fermentación sumergida en un agitador orbital, a una velocidad de agitación de 200 r.p.m. La temperatura osciló entre los 28 y 30 °C, y se mantuvieron bajo estas condiciones durante un período de 48 horas. Los medios de cultivo utilizados fueron los siguientes: Dimargón-M (Dibut *et al.*, 2003) para *Azotobacter chroococcum*, Caldo nutriente (BIOCEN, 2013) para los bacilos y YMA (citado por Martínez *et al.*, 2006) para los rizobios.

Además se evaluaron las combinaciones *A. chroococcum*, *B. megatherium*, *B. subtilis* (A, Bm, Bs), *Rhizobium spp*, *B. megatherium*, *B. subtilis* (Rh, Bm, Bs) y *R. pusense*, *B. megatherium*, *B. subtilis* (M, Bm, Bs), con la misma metodología anteriormente descrita.

Cada experimento se repitió en tres ocasiones, con cuatro réplicas cada una y se promediaron los valores de las mismas para la valoración final de los resultados.

#### **Determinación de las poblaciones de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en semillas peletizadas e inoculadas.**

Se utilizaron las combinaciones *Ac/Bm/Bs* para arroz (cv. 'R-15') y maíz (cv. 'Francisco Mejorado'), mientras que para frijol negro (cv. 'Cueto C 25-9') y el garbanzo (cv. 'Nacional 29') se evaluó la mezcla *Rh/Bm/Bs*, sustituyendo *Rhizobium spp* por *R. pusense* en el segundo caso (*M/Bm/Bs*).

Las sustancias peletizantes Disco Agroespecial Azul L-201 y Disco Agro Verde L-205 se combinaron con agua común y el producto microbiano en una proporción 50 %: 45 %: 5 %, respectivamente; se adicionó la semilla y cachaza hasta lograr una consistencia pastosa. Posterior al oreo durante una hora del sistema se procedió al conteo de los microorganismos involucrados en el experimento mediante el Método de Conteo de Diluciones Seriadas y Conteo en Placas *Petri* (Madigan *et al.*, 2018).

Los biopreparados se obtuvieron de igual forma que para el ensayo de compatibilidad. En los conteos de UFC se emplearon los medios sólidos: Ashby para *A. chroococcum*, Pikosvkaya para *B. megatherium*, YMA con Rojo Congo para *Rhizobium*, todos citados por Martínez *et al.*

(2006) y Agar Nutriente (BIOCEN, 2013) para *B. subtilis*.

Los experimentos se repitieron en tres ocasiones con tres réplicas cada una. Los resultados se promediaron para realizar la valoración final de los mismos. Se transformaron los valores a Log de UFC semilla<sup>-1</sup> para cuantificar la concentración de las PGPB.

#### **Efecto de la peletización de semillas combinada con la aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal.**

El experimento se realizó en condiciones semicontroladas (casa de cristal). Durante el estudio la temperatura promedio osciló entre 18 - 20 °C, y la humedad relativa entre 70 y 72 %. Se utilizó un suelo Ferralítico Rojo Lixiviado Compactado, Gléyico y Nodular Ferruginoso (Hernández *et al.*, 2015) y materia orgánica en una proporción de 50:50 de cada uno.

Después de 21 días para las gramíneas y 30 días para las leguminosas se determinó la altura de la planta (cm), el diámetro del tallo (cm), masa fresca (g) y masa seca (g) de 20 plantas, para los cuatro cultivos en estudio (maíz, arroz, frijol negro y garbanzo). Para medir los dos primeros indicadores se utilizó un pie de Rey con un error de 0,05 cm, mientras que para cuantificar la masa se empleó una balanza semianalítica con un margen de error de 0,01 g.

Se utilizaron para la inoculación los productos mixtos relacionados anteriormente. En el estudio se utilizó un Diseño Completamente Aleatorizado. Se comprobó la normalidad y homogeneidad de varianzas de los resultados alcanzados para cada indicador, mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov, Cochran C, Hartley y Bartlett. Las medias de los resultados de cada tratamiento se

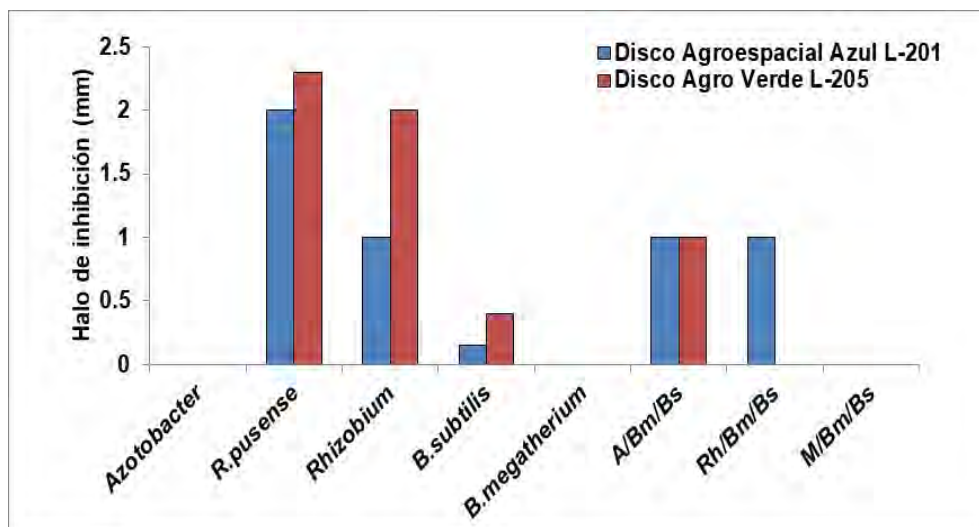
compararon con la prueba “t” de Student con un 5 % de probabilidad de error. Para los análisis se recurrió al programa STATGRAPHICS® plus versión 5.0.

#### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Las cepas de bacterias promotoras del crecimiento vegetal utilizadas en el estudio (*Azotobacter chroococcum*, *Rhizobium* spp., *R. pusense*, *B. megathieurm* y *B. subtilis*) son compatibles con las sustancias peletizantes Disco Agroespecial Azul L-201 y Disco Agro Verde L-205. Se debe destacar sin embargo, que el género *Rhizobium* mostró halos superiores a los 0,2 cm, los que, aunque son mayores que para los restantes microorganismos, se consideran despreciables para declarar incompatibilidad, según la escala propuesta por Martínez y Dibut (2012) (Figura 1).

Las sustancias peletizantes no son compuestos tóxicos, ya que se emplean para mejorar las condiciones externas de la semilla y protegerlas de posibles daños en el suelo (Peña *et al.*, 2016), garantizar una mejor germinación y mayor supervivencia de la planta (Vergani y Zúñiga, 2018). Sin embargo, existen estudios donde otros compuestos que se consideran inocuos como goma arábica, polivinilpirrolidona, almidón y sacarosa, afectan el crecimiento de bacterias promotoras del crecimiento vegetal como *Azotobacter chroococcum* (Montano, 2015).

Demostrar la existencia de compatibilidad entre las sustancias peletizantes y las PGPB en sistemas cerrados como los *in vitro*, donde los compuestos tienen una interacción directa con los microorganismos, es un resultado importante y alentador, máxime cuando se mantiene la tendencia aunque se mezclen varias cepas bacterianas.



**Figura 1.** Compatibilidad entre cepas de PGPB y sus combinaciones y las sustancias peletizantes Disco Agroespacial Azul L-201 y Disco Agro Verde L-205. (A/Bm/Bs: combinación *A. chroococcum*, *B. megatherium* y *B. subtilis*; Rh/Bm/Bs: combinación *Rhizobium* spp, *B. megatherium* y *B. subtilis*; M/Bm/Bs: combinación *R. pusense*, *B. megatherium* y *B. subtilis*).

Martínez y Dibut (2012) consideran este tipo de compatibilidad como el primer paso para valorar la posibilidad de combinar microorganismos y/o productos, por lo que sugieren se emplee como criterio primario para descartar combinaciones poco promisorias en los trabajos de aplicación de productos biológicos.

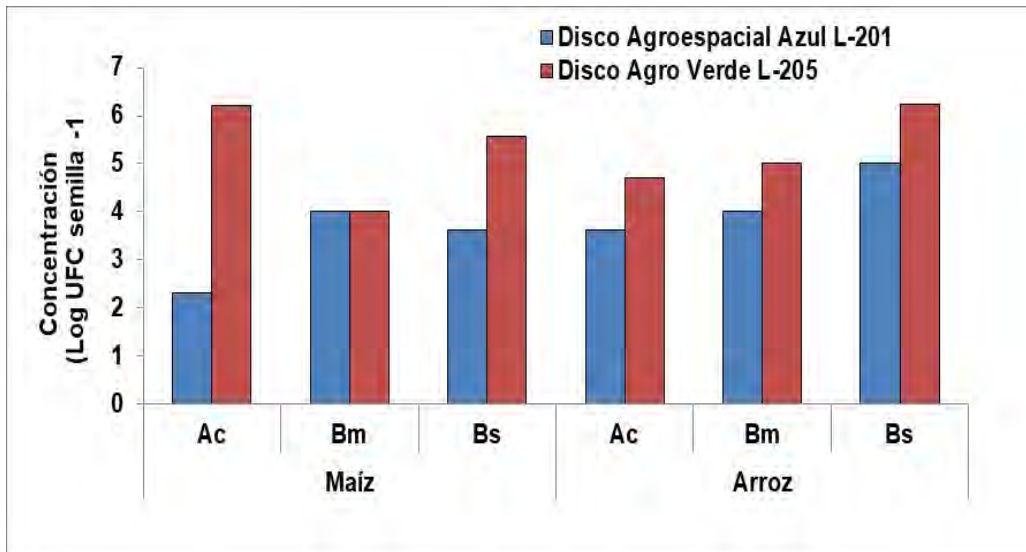
Al incluir diferentes combinaciones de las cepas en estudio durante la peletización de las semillas se demostró que los microorganismos se adhieren a la superficie de las semillas peletizadas independientemente del tipo de sustancia peletizante que se utilice.

La Figura 2 muestra los resultados alcanzados para la mezcla *A.chroococcum*, *B.megatherium* y *B.subtilis* en gramíneas (maíz y arroz). Se logró detectar la presencia de cada especie microbiana incorporada, lo que demuestra la presencia del

microorganismo en el sistema y constituye un resultado importante para la biofertilización del cultivo utilizando este método.

La adherencia de los microorganismos involucra diferentes mecanismos. Para el caso de *Azotobacter chroococcum* puede influir por ejemplo, la formación de biopelículas en una primera etapa de adherencia y en la resistencia del microorganismo la presencia de quistes que lo protegen de condiciones ambientales adversas (Madigan *et al.*, 2018).

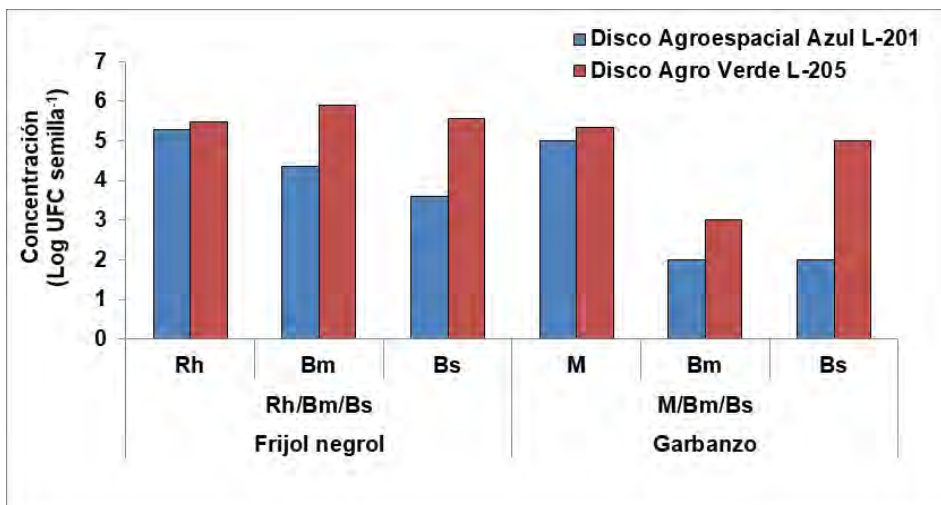
Para el caso de los bacilos además de las biopelículas el comportamiento puede potenciarse con la formación de endoespora como estructura de resistencia que permite que, luego de condiciones estresantes, nuevamente se desarrolle la célula vegetativa (Rojas *et al.*, 2016).



**Figura 2.** Adherencia de diferentes bacterias beneficiosas a las semillas de maíz y arroz peletizadas e inoculadas. (Ac: *A. chroococcum*, Bm: *B. megatherium*, Bs: *B. subtilis*.)

En el segundo grupo de cultivos, las leguminosas, se obtuvieron también resultados alentadores al constatar la presencia de los tres microorganismos inoculados tanto en las semillas de frijol negro como de garbanzo (Figura 3).

Para el caso particular del género *Rhizobium* se describe la producción de una bacterocina conocida como rizobiocina 24, que puede tener efecto de biocontrol y favorecer la supervivencia de este microorganismo en la superficie de la semilla a la vez que le brinda a la misma un valor agregado (Kacem *et al.*, 2009).



**Figura 3.** Adherencia de diferentes bacterias beneficiosas a las semillas de leguminosas peletizada e inoculadas. (Rh: *Rhizobium* spp, M: *R. pusense*, Bm: *B. megatherium*, Bs: *B. subtilis*)

Teniendo en cuenta que en el suelo las poblaciones de estos grupos microbianos se encuentran en el orden de las  $10^3$  -  $10^4$  UFC g suelo<sup>-1</sup> (Martínez y Dibut, 2012) la peletización combinada con la biofertilización potencia que se alcance una concentración similar a esta en la superficie de la semilla antes de ser incorporada a este ecosistema, lo que puede favorecer su crecimiento al incrementar la población de PGPB asociadas a la planta.

En la Tabla 2 se puede apreciar el efecto de la aplicación del producto mixto compuesto por los microorganismos *A. chroococcum*, *B. megatherium* y *B. subtilis* y las sustancias peletizantes Disco Agroespecial Azul L-201 y Disco Agro Verde L-205 para las gramíneas en estudio.

Reconocido es para estos cultivos la acción estimuladora de *Azotobacter chroococcum* y también existen referencias del efecto promotor del crecimiento del producto mixto AZOMEG (ahora nombrado FIXOL), donde esta se combina *Azotobacter chroococcum* con *Bacillus megatherium* (Martínez y Dibut, 2012).

*Bacillus subtilis*, por su parte, se distingue no solo como antagonista, sino también como estimulador del crecimiento vegetal (Rodríguez, 2010).

Todas estas referencias avalan los incrementos alcanzados en las plantas inoculadas para los indicadores evaluados.

**Tabla 2.** Efecto de la incorporación de *A. chroococcum*, *B. megatherium* y *B. subtilis* durante el proceso de peletización en gramíneas.

Sustancia	Tratamiento	Altura (cm)	Diámetro tallo (cm)	Masa fresca/planta (g)	Masa seca/planta (g)
<b>Maíz</b>					
<b>Sustancia Disco Agro Verde L-205</b>	<b>Testigo</b>	20,20 b	0,70 b	17,52 b	1,50 b
	<b>Inoculado</b>	23,70 a	0,90 a	32,88 a	2,72 a
	<b>Esx</b>	2,474	0,140	10,869	0,861
<b>Sustancia Disco Agroespecial Azul L-201</b>	<b>Testigo</b>	19,75 b	0,61 a	18,96 a	1,61 a
	<b>Inoculado</b>	23,26 a	0,63 a	19,00 a	1,62 a
	<b>Esx</b>	2,482	0,061	0,312	0,007
<b>Arroz</b>					
<b>Sustancia Disco Agro Verde L-205</b>	<b>Testigo</b>	9,56 b	0,20 a	0,91b	0,24 b
	<b>Inoculado</b>	10,37 a	0,23 a	1,50 a	0,42 a
	<b>Esx</b>	0,57	0,020	0,423	0,131
<b>Sustancia Disco Agroespecial Azul L-201</b>	<b>Testigo</b>	6,73 b	0,10 a	0,73 b	0,05 b
	<b>Inoculado</b>	9,23 a	0,13 a	0,95 a	0,20 a
	<b>Esx</b>	1,761	0,200	0,167	0,110

Medias con distintas letras difieren significativamente según Prueba "t" de Student, para  $\alpha=0,05$ .

Según los resultados alcanzados se puede proponer la evaluación en condiciones de producción de la combinación *A. chroococcum*, *B. megatherium* y *B. subtilis* durante la peletización de semillas para las dos gramíneas, aunque si se emplean otras sustancias peletizantes se sugiere evaluar de nuevo el comportamiento de las bacterias.

Las leguminosas ratifican con su comportamiento los resultados obtenidos (Tabla 3). En las especies de leguminosas existen referencias acerca de la acción de los rizobios como fijadores de nitrógeno y productores de sustancias fisiológicamente activas, así como de co-inoculaciones que permiten el incremento de

los rendimientos (Cabrera *et al.*, 2017), que demuestran en el efecto positivo que producen este tipo de microorganismos sobre cultivos como el frijol y que sustentan los resultados alcanzados.

En el caso del garbanzo, en Cuba se potencia su extensión por el país, para lo que la aplicación combinada de *R. pusense* y *B. megatherium* ha mostrado muy buenos resultados (Ortega *et al.*, 2016). Poder mezclar el microorganismo durante la peletización de semillas podría contribuir al mejor establecimiento de la planta e incrementar el valor agregado de estos procesos ejecutados de manera independiente.

**Tabla 3.** Efecto de la incorporación de rizobios, *B. megatherium* y *B. subtilis* durante el proceso de peletización en las semillas de leguminosas.

Sustancia	Tratamiento	Altura (cm)	Diámetro tallo (cm)	Masa fresca/planta (g)	Masa seca/planta (g)
<b>Frijol negro</b>					
Sustancia Disco Agro Verde L-205	Testigo	15,00	0,33 b	19,90 b	1,69 b
	Inoculado	16,90	0,43 a	24,80 a	2,16 a
	Esx	0,717	0,070	3,468	0,330
Sustancia Disco Agrospecial Azul L-201	Testigo	10,50 b	0,36 a	9,86 b	0,56 b
	Inoculado	13,70 a	0,40 a	24,20 a	2,11 a
	Esx	2,289	0,031	10,124	1,094
<b>Garbanzo</b>					
Sustancia Disco Agro Verde L-205	Testigo	12,50 b	0,43	0,70 b	7,30 a
	Inoculado	13,70 a	0,50	1,19 a	7,80 a
	Esx	0,857	0,052	0,280	0,370
Sustancia Disco Agrospecial Azul L-201	Testigo	7,30 b	0,15	0,12 b	1,64 b
	Inoculado	9,00 a	0,19	0,33 a	2,34 a
	Esx	1,209	0,040	0,151	0,492

Medias con distintas letras difieren significativamente según Prueba "t" de Student, para  $\alpha=0,05$ .

### CONCLUSIONES

La peletización de semillas puede combinarse con diferentes bacterias promotoras del crecimiento vegetal, con el objetivo de mejorar el crecimiento de especies vegetales como el maíz, el arroz, el frijol y el garbanzo.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bennett, G. y Lloyd, J. (2015). Seed inoculation, coating and precision pelleting: Science technology and practical applications. CRC Press Taylor y Francis Group. Original Edition. Boca Raton, FL, USA, 9-14. ISBN 978-1-4987-1644-4.
- BIOCEN (2013). Manual de Medios de Cultivo. La Habana. Centro Nacional de Biopreparados, BIOCEN. Disponible en: <http://www.biocen.cu>. Consulta: 22/1/2018.
- Cabrera, Y.L.; Santana, Y. y Miranda, E. (2017). Efecto de la inoculación de *Rhizobium* sobre el crecimiento de *Phaseolus vulgaris* (frijol) en condiciones semicontroladas. *Avances*, 19 (1): 66-74. ISSN 1562-3297.
- Dibut, B.; Martínez, R.; Ríos, Y. y Ortega, M. (2003). DIMARGON M, nueva variante nutritiva para la producción de biofertilizantes y bioestimuladores a base de *Azotobacter*. En: CD Resúmenes del V Encuentro de Agricultura Orgánica, La Habana, 36 pp.
- Hernández, A.; Pérez, J.M.; Bosch, D. y Castro, N. (2015). Clasificación de los suelos de Cuba. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Instituto de Suelos. Ediciones INCA. 92 pp. ISBN: 978-959-7023-77-7.
- Kacem, M.; Kazouz, F.; Merabet, Ch.; Rezki, M.; de Lajudie, P. y Bekki, A. (2009). Antimicrobial activities of *Rhizobium* sp. strains against *Pseudomonas savastanoi*, the agent responsible for the olive knot disease in Algeria. *Grasas y Aceites*, 60 (2): 139-146. ISSN-E:1988-4214.
- Madigan, M.T.; Bender, K.S.; Buckley, D.H.; Sattley, W.M. y Stahl, D.A. (2018). Brock Biology of Microorganisms. Fifteenth Edition. Global Edition, 1058 pág. ISBN 07-0-13-426192-8.
- Martínez, R. y Dibut, B. (2012). Biofertilizantes Bacterianos. Editorial Científico-Técnica, 279 pág. ISBN 978-959-05-0659-8.
- Martínez, R.; López, M.; Brossard, M.; Tejada, G.; Pereira, H.; Parra, C.; Rodríguez, J. y Alba, A. (2006). Procedimientos para el estudio y fabricación de Biofertilizantes Bacterianos. Ed. INIA - Maracay. Venezuela, 88 pp. (Serie B No 11).
- Montano, Y. (2015). Comportamiento del biofertilizante DIMARGON® ante la adición de sustancias preservantes. Tesis en Opción al Título de Ingeniero Agrónomo. 43 pp. La Habana, Cuba.
- Ortega, M.; Shagarodsky, T.; Dibut, B.; Ríos, Y.; Tejada, G. y Gómez, L.A. (2016). Influencia de la interacción entre el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) y la inoculación con cepas seleccionadas de *Mesorhizobium* spp. *Cultivos Tropicales*, 37 (No. Especial): 20-27. ISSN digital: 1819-4087.
- Peña, M.; Hidalgo, C.M.I.; González, A.; Alcántar, G. y Etchevers, J.E. (2016). Recubrimiento de semillas de maíz (*Zea mays* L.) con quitosano y alginato de sodio y su efecto en el desarrollo radical. *Agrociencia*, 50: 1091-1106. ISSN: 2521-9766.
- Rodríguez, J. (2010). Formulación de un bioproducto mixto a partir de *Azotobacter chroococcum* y *Bacillus subtilis* para el tratamiento de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Tesis para optar por el Grado Científico de Máster en Agricultura Urbana. 81 pp. La Habana, Cuba.
- Rojas, M.M.; Tejera, B.; Bosh, D.M.; Ríos, Y.; Rodríguez, J. y Heydrich, M. (2016). Potencialidades de cepas de *Bacillus* para la

promoción del crecimiento del maíz (*Zea mays* L.). Cuban Journal of Agricultural Science, 50th Anniversary, 50 (3): 485-496. ISSN 2156-856.

Vergani, I. y Zúñiga, D. (2018). Efecto de la inoculación y peletización en la germinación y

crecimiento de plantas de maca (*Lepidium meyenii* W.) a nivel *in vitro* e invernadero. Revista Peruana de Niología, 25 (3): 329 – 334. ISSN 1561-0837.

Fecha de recepción: 14 agosto 2019

Fecha de aceptación: 21 noviembre 2019

Agrotecnia de Cuba  
ISSN impresa: 0568-3114  
ISSN digital: 2414- 4673  
<http://www.ausuc.co.cu>

